

〔研究〕

コレステロール測定用試液（ヤترون）の検討について

秋田赤十字病院

館岡 均 猪岡文之助 酒田 恵子 根本 一蔵
加藤 幸子 沢石由美子 工藤あつ子 渡辺久仁子

はじめに

臨床検査室における総コレステロールの測定件数増加に伴い、1ステップ法による市販キットが種々開発され普及している。私達は今回、Kiliani反応をもとに調製された「コレステロール測定用試液」について検討する機会を得、基本的な点のみであるが若干の検討を行なったので報告する。

I 測定方法

(1) 試薬「コレステロール測定用試液」

(2) 操作法

操作法および操作上の注意事項については、キット説明書に従い行なった。

表1 測定操作法

	検 体	標 準 液	ブ ラ ン ク
(1) 呈 色 試 液	4.0ml	4.0ml	4.0ml
(2) 試 料	0.02ml	0.02ml	
(3) 加 温	よく混和し、37°C、30分間加温		
(4) 冷 却	約2分間、流水冷却		
(5) 測 定	90分以内に、ブランクを対照として560nmで吸光度を測定する		

(3) 使用器具および試料

1. 比色計 日立101型分光光度計（10mm角型セル）

2. 混和 サーモミキサー

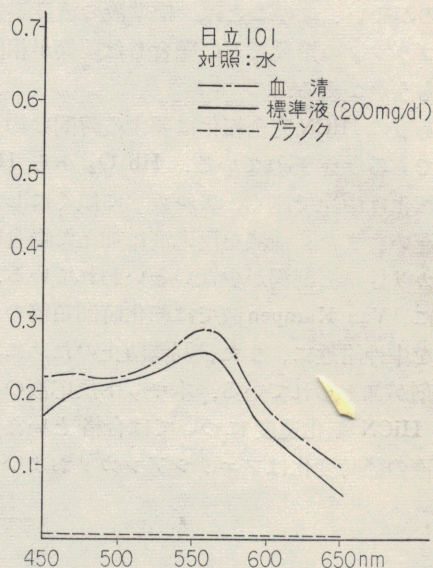
3. 試料 自家製プール血清
生化学検査残余血清
市販コントロール血清

II 検討成績ならびに考察

a 吸収特性

標準液、血清の吸収曲線は560nmにおいて、

図1 吸収曲線



標準液、血清ともに最大吸収がみられた（図1）。

b 標準曲線の直線性

図2に示すように標準曲線は500mg/dlまでBeerの法則に従い原点を通る直線となつた。従つて標準液（200mg/dl）の1点をプロットして原点と結び、500mg/dlまで延長して標準曲線とすることが可能と思われる。

c 加温時間

標準液、血清について37°Cにおける加温時間による呈色の変化を検討した。図3の如く標準液では10分以後45分まで、血清では20分以後45分まで一定となつた。従つて加温時間は、標準液、血清ともに一定値を示す30分が適当と思われる。

d 混和条件

1) 呈色液に試料を加えてから、混和までの放

図2 標準曲線

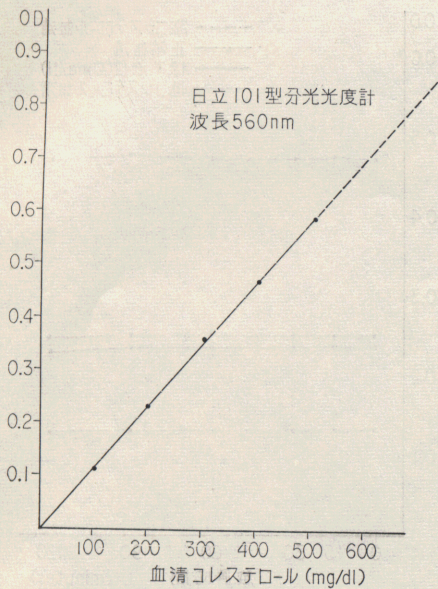
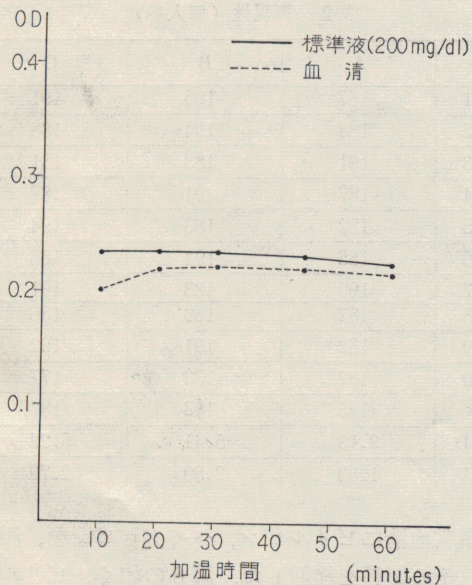


図3 加温時間の検討



置時間による呈色の変化を検討した。図4の如く、標準液、血清ともに、1分以後、吸光度の低下がみられた。試料を速やかに、混和することが望ましいと思われる。

2) 標準液、血清について、サーモミキサーを用い1回1～2秒の混和で、混和回数による呈色

図4 混和条件の検討(1)

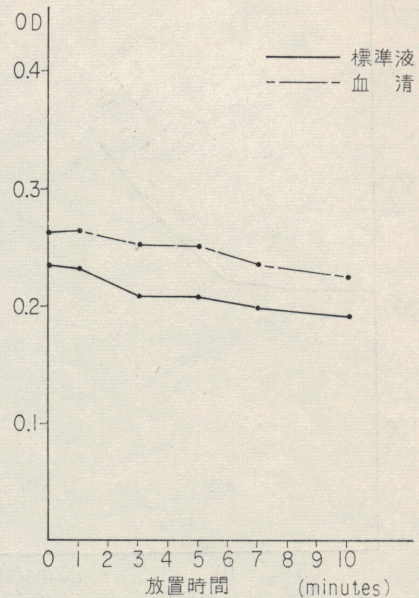
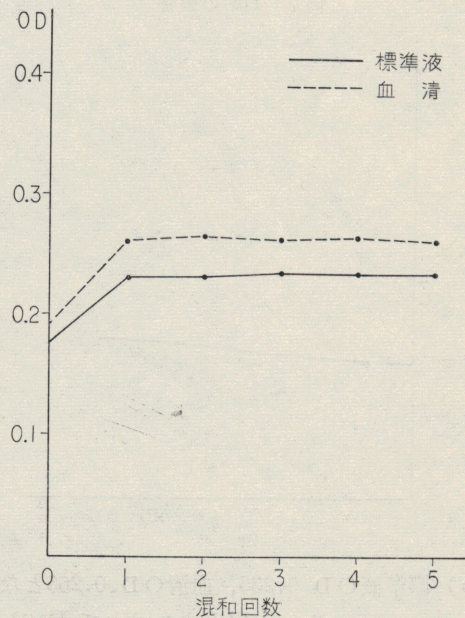


図5 混和条件の検討(2)



の変化を検討した。図5の如く、混和1回以後は一定の値を示した。又、有栓コレステロール管で上下に5回(a), 10回(b), 混和(用手)したところ, (a) 標準液OD 0.233, 血清OD 0.264,

図6 ビリルビンの影響

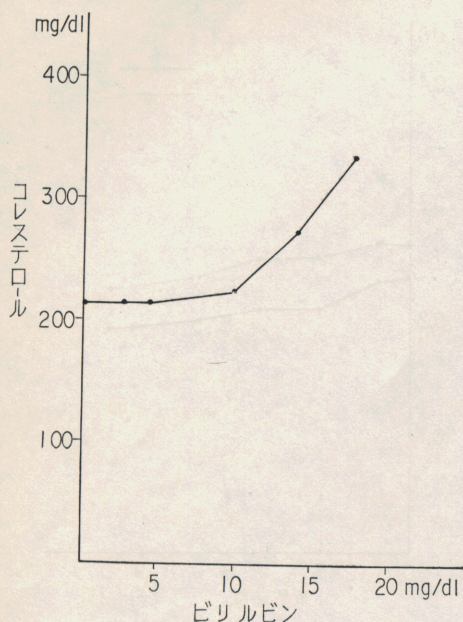
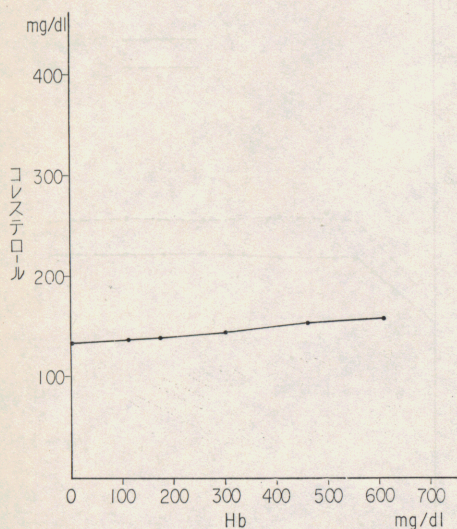


図7 Hb の影響



(b) 標準液OD 0.235, 血清OD 0.265となつた。サーモミキサー、用手法いずれで混和しても、又、混和回数が不規則であつても、内容が充分混和される条件であれば、呈色に変化はないものと思われる。

e 妨害物質の影響

図8 呈色の定安性

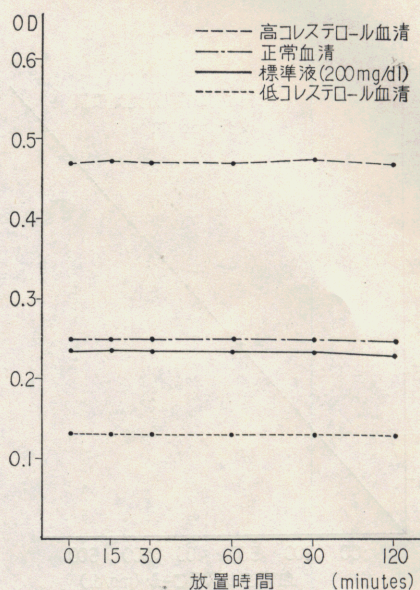


表2 再現性 (個人差)

	A	B	C
1	187	195	191
2	184	194	188
3	191	183	181
4	187	191	187
5	182	183	194
6	185	194	186
7	190	183	191
8	182	183	186
9	182	191	192
10	182	183	177
x	185	188	187
S D	3.13	5.41	5.22
C V	1.69	2.89	2.79

正常血清にビリルビン、ヘモグロビンを、添加し、その影響を検討した。図6の如く、ビリルビン10mg/dl以上で高値となつた。ヘモグロビンについては、図7の如く、300mg/dl以上で多少高値となつたが通常はほとんど影響ないと思われる。

f 呈色の安定性

呈色後の経時変化は、図8の如く、高コレステロール血清、低コレステロール血清、正常血清、

標準液とも、ほぼ 120分まで一定となつた。

g 再現性および個人差

血清を同時測定した時の再現性は、表2の如く、SD 185 ± 3.13 , CV 1.69%と良好であつた。又、同一血清について、A, B, C, 3人の測定者による測定値の比較では、測定者間における測定値に有意差はみられなかつた。

h 日差変動

同一血清について、10日間の連日測定では、表3の如く、SD 184 ± 3.42 , CV 1.86%と良好な

表3 日差変動

n	標準液(O. D)	血清(O. D)	血清 (mg/dl)
1	0235	0215	183
2	0230	0210	183
3	0210	0202	192
4	0225	0202	180
5	0220	0206	187
6	0225	0205	182
7	0225	0205	182
8	0210	0192	183
9	0230	0212	182
10	0220	0204	185
\bar{x}	0223	0205	184
SD	0.0079	0.0069	3.42
CV	3.5	3.4	1.86

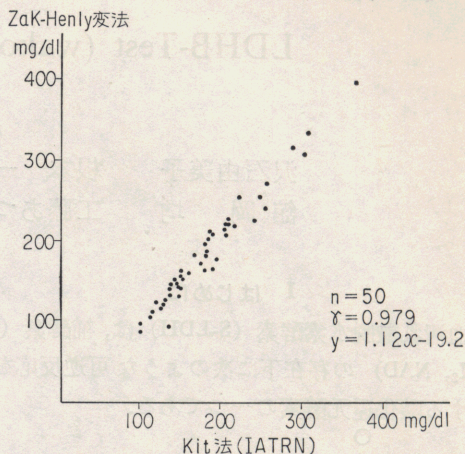
日差再現性を示した。

i 既知濃度血清の測定

コントロール血清表示値に対するキット測定値は、Chemtrol表示値 (108~119) 測定値 125, HYLAND Special 表示値 (165~185) 測定値 177, Serachol 表示値 (365) 測定値 344であつた。

j 他方法との比較

図9 Zak-Henly 変法と Kit 法との相関関係



Zak-Henly 変法との比較では、図9の如く、相関係数 0.979と良好な相関関係がみられた。

III まとめ

- (1) 操作が簡単で迅速に測定を行なうことができる。
- (2) 従来の方法にみられるような刺激臭がない。
- (3) ビリルビン・ヘモグロビンの影響が通常の血清ではほとんどない。
- (4) 呈色後の安定が良好である。
- (5) 同時測定の精度CV 1.69%, 連日測定の精度CV 1.86%, Zak-Henly 変法との相関は相関係数 $r = 0.979$ と高い。

以上の成績より、本キットは日常検査に有用なものである。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜りました竹本吉夫院長に深く感謝いたします。

本論文の要旨は、第13回東北衛生検査学会において発表した。